Enzyme und andere Proteine in der Milch

Aufgaben

1 Milch ist ein wichtiges Nahrungsmittel. Kuhmilch z. B. besteht zu über 80 % aus Wasser und enthält ca. 3,5 % Proteine. Den größten Anteil daran machen die Caseine aus. Untersucht man Milch mit dem Mikroskop, findet man die sogenannten Casein-Micellen (Material 1). Durch die Micellenbildung werden die Caseine in der Milch in Lösung gehalten. Bei der Quarkherstellung wird zur Denaturierung der Caseine Labenzym, das Chymosin, zur Milch gegeben. Nach kurzer Zeit flockt das gesamte Casein aus und kann abgeschöpft werden.

1.1 Erläutern Sie den allgemeinen Aufbau von Proteinen.

Hinweis: Gehen Sie auch auf die stabilisierenden Bindungskräfte ein.

(8 BE)

1.2 Erklären Sie mithilfe von Material 1 die Bildung der Micellen in der Milch und entwickeln Sie zwei Hypothesen zur molekularen Wirkung des Chymosins, die zur Ausflockung der Caseine aus der Milch führen würden.

(4 BE)

1.3 Geben Sie mithilfe der Codesonne eine DNA-Sequenz für die Aminosäuresequenz 101 bis 105 und 165 an und untersuchen Sie die möglichen Folgen eines Basenaustauschs des κ-Caseins in Position 105 und in Position 165 (Material 1).

(10 BE)

1.4 Da das aus Kälbermägen gewonnene Chymosin den Bedarf bei weitem nicht deckt, hat man nach Alternativen gesucht und auch in Schimmelpilzen wie *Aspergillus* und in Pflanzen wie der Artischocke Proteasen gefunden, die wie Chymosin zum Ausflocken der Caseine in der Milch verwendet werden können. Material 2 zeigt das Ergebnis der Untersuchung zweier solcher Proteasen. Für die Messungen wurden gleiche Enzymkonzentrationen verwendet.

1.4.1 Bestimmen Sie die K_M-Werte für die beiden Enzyme anhand der Kurven und zeigen Sie die allgemeine Bedeutung des K_M-Wertes auf.

(8 BE)

1.4.2 Vergleichen Sie die Abbaugeschwindigkeit von κ-Casein durch die beiden Enzyme bei einer κ-Casein-Massenkonzentration von 2,0 g/L und erklären Sie die Auswirkung einer Massenkonzentrationserhöhung des κ-Caseins um 1,0 g/L auf die jeweilige Enzymaktivität.

(5 BE)

1.4.3 Beurteilen Sie die Eignung der beiden Enzyme für den Prozess der Caseinfällung bei der Milchverarbeitung.

(5 BE)

1.5 Das Enzym soll gentechnisch in *Escherichia coli* (*E. coli*) hergestellt werden.

1.5.1 Fertigen Sie ein Ablaufschema der gentechnischen Herstellung bis zum verkaufsfähigen Enzym an, indem Sie von einem aus dem *Aspergillus*-Stamm gewonnenen mRNA-Gemisch ausgehen und zur Transformation in *E. coli* den abgebildeten Vektor (Material 3) verwenden.

(12 BE)

1.5.2 Material 4 zeigt das Ergebnis der Transformation. Die *E. coli*-Zellen wurden auf einem Nährboden ohne Antibiotika bebrütet und die gewachsenen Kolonien dann mittels eines Stempels auf die drei anderen Nährböden übertragen.
Wählen Sie die für die Produktion geeignete Bakterienkolonie aus und begründen Sie Ihre Entscheidung.

(6 BE)

1.5.3 Erklären Sie die Risiken der Verwendung von Antibiotika-Resistenzgenen für Mensch und Umwelt und entwerfen Sie dazu ein mögliches Szenario der Resistenzverbreitung.

(8 BE)

1.5.4 Zeigen Sie eine mögliche Alternative zur Verwendung von Antibiotika-Resistenzgenen auf.

(3 BE)

2 Lecithin ist ein Bestandteil der Milch und kann zur Herstellung von Hautcremes verwendet werden. Dazu wird Lecithin aus der Milch durch das Enzym Phosphatase enzymatisch gespalten. In mehreren Versuchsreihen wurde die Abhängigkeit der Enzymaktivität von der Temperatur und vom pH-Wert der Lösung untersucht (Material 5).

2.1 Erläutern Sie die dargestellte Abhängigkeit der Enzymaktivität vom pH-Wert bei einer Temperatur von 30 °C anhand einer Modellvorstellung.

(7 BE)

2.2 Überführen Sie die Werte zur Abhängigkeit der Enzymaktivität von der Temperatur bei pH 7 (Ergebnisse aus Material 5) in ein beschriftetes Diagramm und erläutern Sie den Kurvenverlauf.

(11 BE)

3 Die Caseine in der Milch verschiedener Tierarten unterscheiden sich. Um zu überprüfen, ob ein als „Schafskäse“ deklarierter Käse durch Zusatz der billigeren Kuhmilch verfälscht wurde und um gegebenenfalls auch die Menge an Rindercasein feststellen zu können, werden bei der Lebensmittelüberwachung ELISA-Tests eingesetzt. Material 6 zeigt schematisch den Ablauf solcher Tests.

3.1 Erläutern Sie mithilfe von Material 6 den Ablauf dieser Tests zur Erkennung eines mit Kuhmilch verfälschten Schafskäses (qualitativ) und die Verfahrensschritte zur Feststellung der Menge an Rindercasein (quantitativ).

(8 BE)

3.2 Die Gelelektrophorese ist ein weiteres Verfahren zur Identifikation verschiedener Proteine in einer Probe.
Beurteilen Sie die Eignung des Verfahrens im Vergleich mit dem ELISA-Test.

(5 BE)

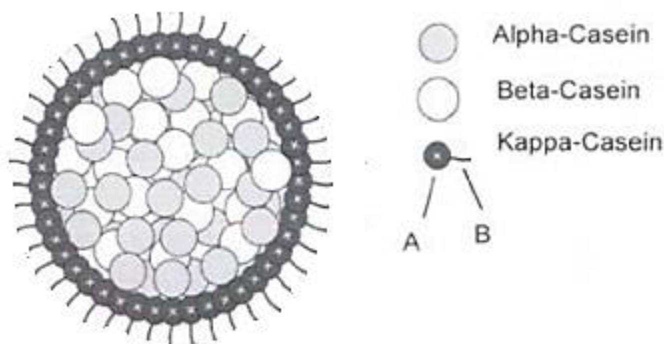
Material 1

Die Löslichkeit der Proteine in der Milch

Die Caseine der Milch teilen sich auf in Alpha-, Beta- und Kappa-Caseine (α-, β - und κ-Caseine). Die α- und β-Caseine sind hauptsächlich aus Aminosäuren mit hydrophoben Resten aufgebaut, weshalb sie in Wasser sehr schlecht löslich sind und sich in wässriger Umgebung zu größeren Aggregaten (Abb.1.1) zusammenballen. Im Gegensatz dazu stehen die κ-Caseine, bei denen einige Aminosäuren glykolisiert, also mit Zuckermolekülen verknüpft sind, Diese bewirken aufgrund ihrer polaren (hydrophilen) Eigenschaften eine gute Wasserlöslichkeit des κ-Caseins. Das aus den zwei Molekülteilen A und B (Abb.1.1) aufgebaute κ-Casein weist im Molekülteil B sieben solcher mit Zuckermolekülen verknüpfte Aminosäuren auf (große Buchstaben in Abbildung 1.2).

geändert nach: Rupert M. Bruckmaier: Kurzes Lehrbuch Milchkunde und Milchhygiene, Stuttgart, 2007, S.90-93.

Abb. 1.1 Schematische Darstellung einer Caseinmicelle in der Milch



geändert nach: C.Phadungath: Casein micelle structure: a concise review, in: Songklanakarin Journal of Science and Technology, Volume 27, 2005, S.201.

Abb. 1.2 Aminosäuresequenz des bovinen κ-Caseins (Einbuchstabencode)

1 QEQNQEQPIR CEKDERFFSD KIAKYIIPIQY VLSRYPSYGL NYYQQKPVAL

51 INNQFLPYPY YAKPAAVRSP AQILQWQVLS NTVPAKSCQA QPTTMARHPH

⇩

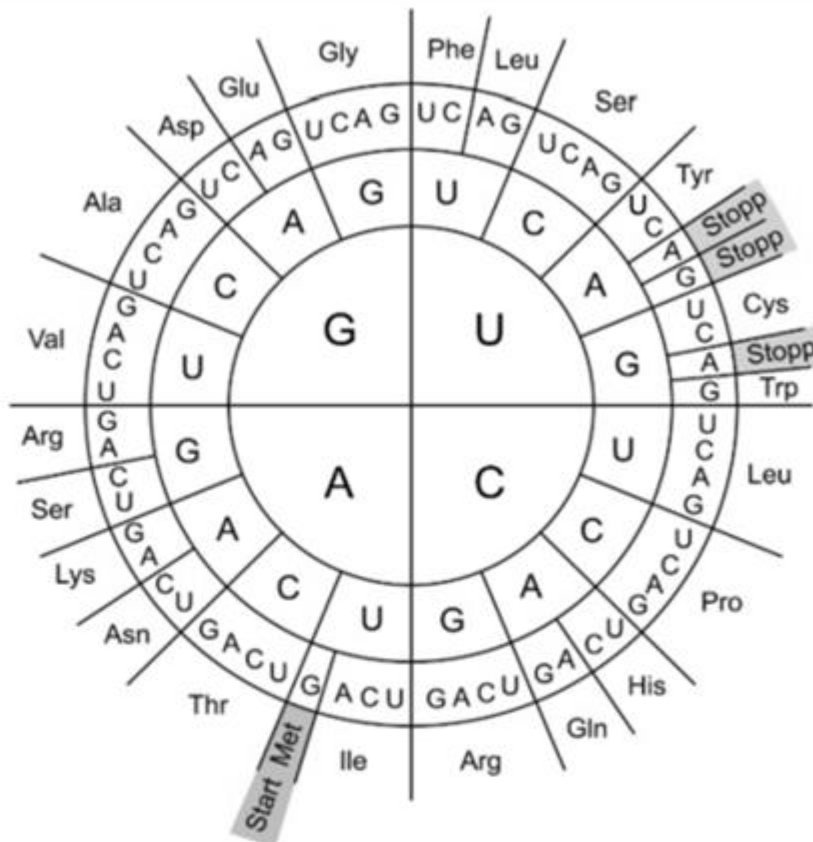
101 PHLSF MAIPP KKNQDKTEIP **T**INTIASGEP **TST**PT**T**EAVE S**T**VATLEDSP

151 EVIESPPEIN TVQV**T**STAV

Hinweis: Die großen Buchstaben bezeichnen die mit Zuckermolekülen verbundenen Aminosäuren, der Pfeil zeigt die Schnittstelle für das Chymosin.

geändert nach: H.D. Belitz, W. Grosch: Lehrbuch der Lebensmittelchemie, Heidelberg, 1992, S.454-462.

Abb. 1.3 Codesonne und Buchstabencodes der Aminosäuren



geändert nach: https://www.abiweb.de/assets/courses/media/screen-shot-2013-01-13-at-09.11.38-print.png (abgerufen am 28.03.2021).

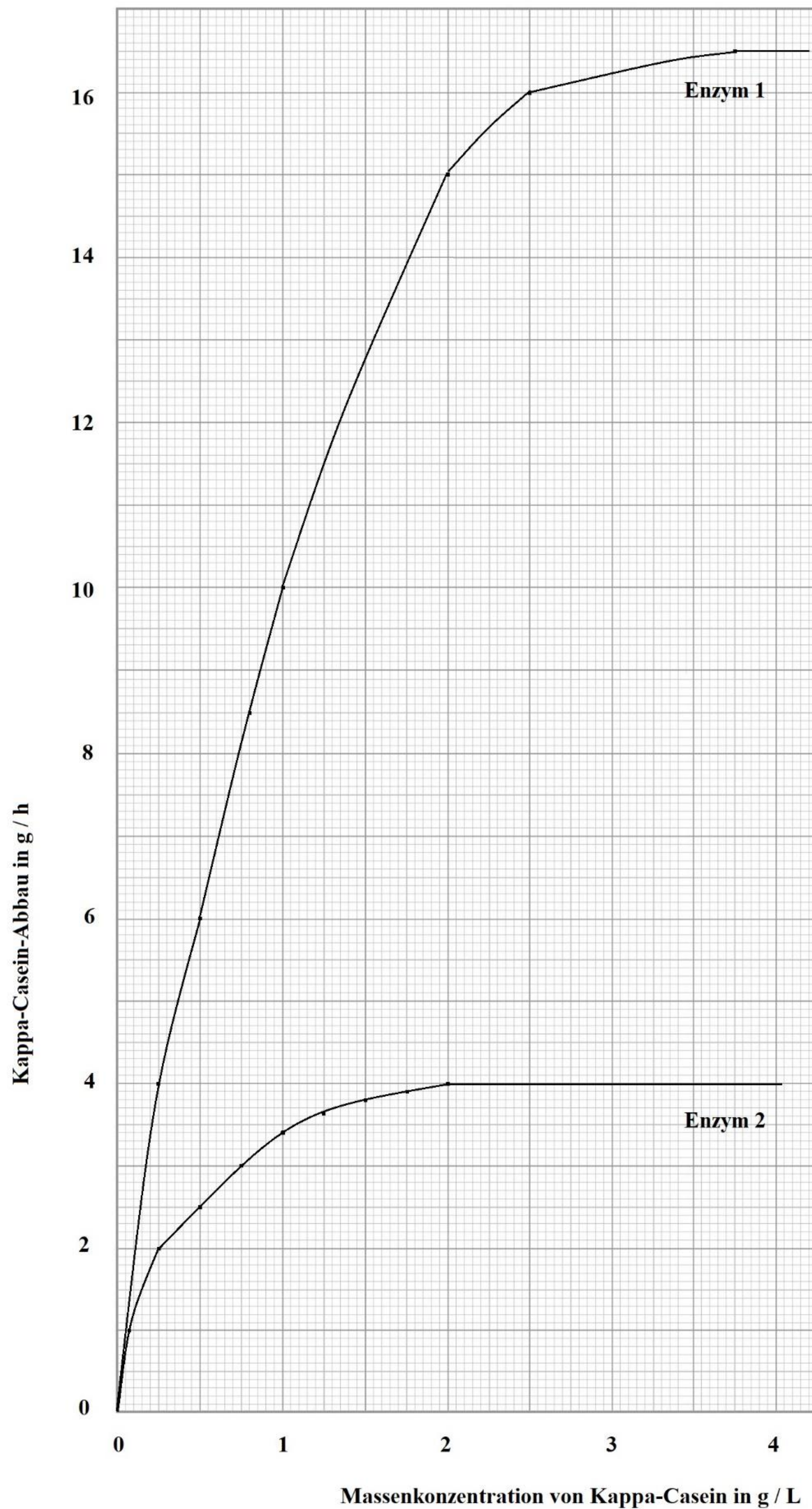
Aminosäure	3 Buchstaben	1 Buchstabe
Alanin	Ala	A
Arginin	Arg	R
Asparagin	Asn	N
Asparaginsäure	Asp	D
Cystein	Cys	C
Glutamin	Gln	Q
Glutaminsäure	Glu	E
Glycin	Gly	G
Histidin	His	H
Isoleucin	Ile	I

Aminosäure	3 Buchstaben	1 Buchstabe
Leucin	Leu	L
Lysin	Lys	K
Methionin	Met	M
Phenylalanin	Phe	F
Prolin	Pro	P
Serin	Ser	S
Threonin	Thr	T
Tryptophan	Trp	W
Tyrosin	Tyr	Y
Valin	Val	V

geändert nach: https://patents.google.com/patent/DE69630234T2/de (abgerufen am 28.05.2021).

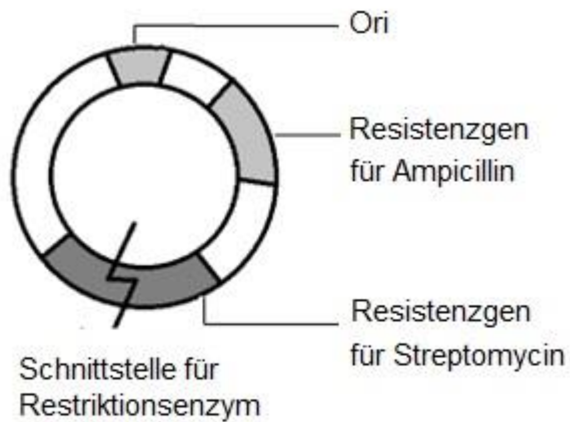
Material 2

Ergebnisse der Aktivitätsmessung von Labenzym aus Artischocke (Enzym E1) und Aspergillus (Enzym E2)



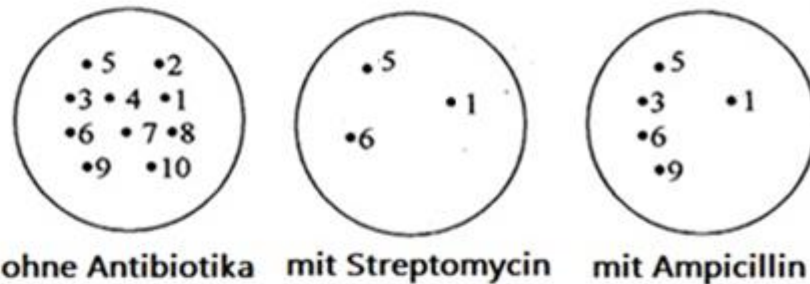
Material 3

Vektor zur Expression des Gens in *E. coli*



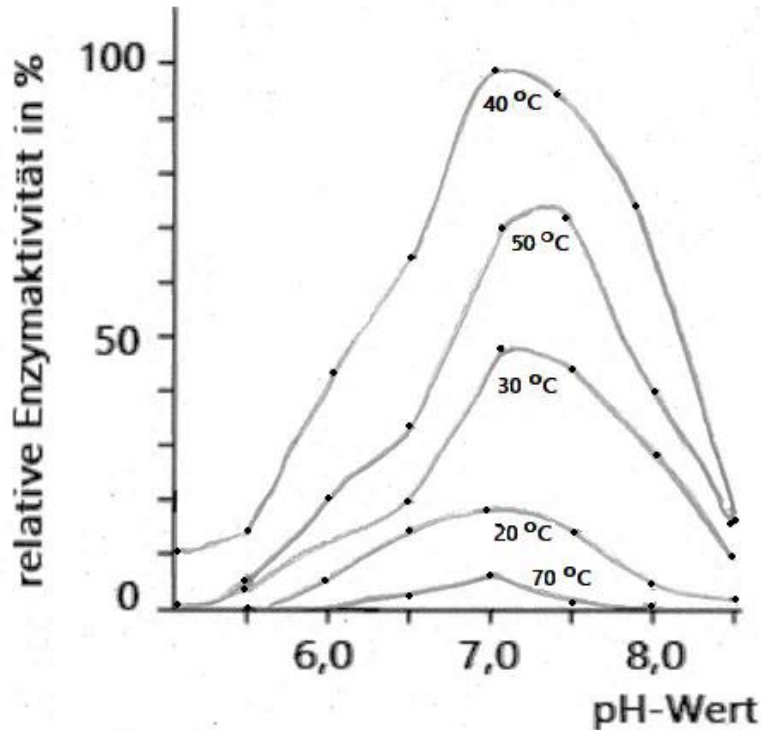
Material 4

Selektion der transformierten Bakterien



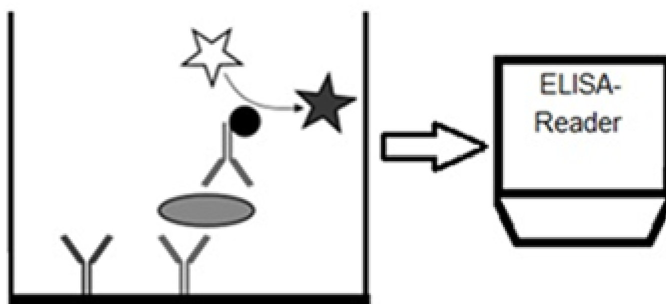
Material 5

Enzymaktivität bei verschiedenen pH-Werten und Temperaturen



Material 6

Unvollständige schematische Darstellung ausgewählter Schritte beim Sandwich-ELISA



geändert nach: https://de.m.wikipedia.org/wiki/Datei:ELISA-sandwich.svg (abgerufen am 13.03.2022).